

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1906

THÈSE

N°

184

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Mercredi 14 Mars 1906, à 1 heure

PAR

André LAGRANGE

Nouvelle Méthode
de Dosage de l'Acide Salicylique

ET APPLICATION DE CE PROCÉDÉ

A la recherche de certains Dérivés Salicylés

Président : M. GAUTIER, professeur

Juges { MM. LANDOUZY, professeur
DESGREZ, agrégé
LABBE (Marcel), agrégé

*Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les
diverses parties de l'enseignement médical.*

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

Henri JOUVE

15, RUE RACINE, 15

1906

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen	M. DEBOVE.
Professeurs	MM.
Anatomie.....	P. POIRIER
Physiologie.....	CH. RICHET.
Physique médicale.....	GARIEL.
Chimie organique et Chimie minérale.....	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.....	BLANCHARD
Pathologie et thérapeutique générales.....	BOUCHARD
Pathologie médicale.....	HUTINEL.
	BRISSAUD.
Pathologie chirurgicale.....	LANNELONGUE
Anatomie pathologique.....	CORNIL.
Histologie.....	MATHIAS DUVAL
Opérations et appareils.....	SEGOND.
Pharmacologie et matière médicale.....	POUCHET.
Thérapeutique.....	GILBERT.
Hygiène.....	CHANTERMESSE
Médecine légale.....	BROUARDEL
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	DEJERINE.
Pathologie expérimentale et comparée.....	ROGER.
Clinique médicale.....	HAYEM
	DIEULAFOY.
	DEBOVE
	LANDOUZY.
	GRANCHER.
Maladies des enfants.....	JOFFROY.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.....	GAUCHER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	RAYMOND
Clinique des maladies du système nerveux.....	LE DENTU.
Clinique chirurgicale.....	TERRIER.
	BERGER.
	RECLUS.
Clinique ophtalmologique.....	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires.....	GUYON.
Clinique d'accouchements.....	BUDIN.
	PINARD.
Clinique gynécologique.....	POZZI
Clinique chirurgicale infantile.....	KIRMISSON.
Clinique thérapeutique.....	A. ROBIN.

Agrévés en exercice.

MM.

AUVRAY	DESGREZ	LAUNOIS	POTOCKI
BALTHAZARD	DUPRE	LEGRY	PROUST
BRANCA	DUVAL	LEGUEU	RENON
BEZANÇON	FAURE	LEPAGE	RICHAUD
BRINDEAU	GOSSET	MACAIGNE	RIEFFEL (chef
BROCA (ANDRÉ)	GOUGET	MAILLARD	des travaux anat.
CARNOT	GUIART	MARION	TEISSIER
CLAUDE	JEANSELME	MAUCLAIRE	THIROLOIX
CUNEO	LABBE	MERY	VAQUEZ
DEMLIN	LANGLOIS	MORESTIN	WALLICH

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

MESSIEURS LES DOCTEURS

CHAUFFARD

Médecin des Hôpitaux, Professeur agrégé à la Faculté de
Médecine.

LE DENTU

Professeur de clinique chirurgicale à l'Hôtel Dieu

LEGRY

Médecin des Hôpitaux, Professeur agrégé à la Faculté de
Médecine.

SICARD

Médecin des Hôpitaux de Paris.

CETTINGER

Médecin à l'Hôpital Broussais.

RICARD

Chirurgien à l'Hôpital Saint-Louis.

PINARD

Professeur de clinique obstétricale.

A LA MÉMOIRE DU DOCTEUR RENDU

Médecin à l'Hôpital Necker.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR ARMAND GAUTIER

Professeur de chimie biologique à la Faculté de médecine.

Vice-président de l'Académie de Médecine.

Membre de l'Institut.

AVANT-PROPOS

Au début de ce travail, il nous est agréable de remercier tous les maîtres qui nous ont initié à l'art de la Médecine.

M. le Dr DELPEUCH, le Dr CHAUFFARD et M. le professeur LE DENTU ont guidé nos premiers pas.

Nous pénétrons alors plus intimement dans la pratique médicale ayant été attaché en qualité d'externe à la Consultation de Médecine de l'Hôtel-Dieu. M. le Dr LEGRY nous y enseigna l'art d'examiner les malades avec justesse et rapidité.

M. le Dr SICARD, qui le remplaça pendant une absence, devint pour nous un ami plutôt qu'un maître.

L'année que nous avons passée chez M. le Dr CÉTINGER, a été la plus fructueuse, tant à cause de son enseignement de la clinique interne, si clair et si précis, que, parce que nous lui devons l'idée première du travail que nous présentons ici.

Ce fut lui qui nous fit vraiment médecin au double titre de la clinique et du couronnement de nos études : notre thèse.

Dans le service de M. le Dr RICARD nous sommes

fier d'avoir pu apprécier son habileté, sa science chirurgicale et son clair enseignement.

Nous avons été heureux de pouvoir profiter des belles leçons de M. le professeur PINARD.

Que ces maîtres nous permettent ici de leur exprimer toute notre gratitude.

C'est M. le professeur GAUTIER qui nous a permis, en nous acceptant dans son laboratoire, de couronner enfin nos études par ce modeste travail.

Il a toujours été pour nous d'une grande bienveillance et ses encouragements nous ont été une aide dans les passages difficiles ; sa parole claire et précise nous initia aux secrets de cette science si intéressante et si fertile qu'est la Chimie biologique.

Nous ne saurions trop, au moment où nous allons entrer dans la carrière médicale, lui témoigner toute notre reconnaissance pour la façon si paternelle dont il envisage les relations avec ses élèves. Nous garderons de ces années de laboratoire les meilleurs souvenirs de toutes nos études.

INTRODUCTION

C'est au cours de mon externat, étant alors dans le service de M. le docteur CÆTTINGER, que m'est venue l'idée du présent travail.

Ayant essayé à diverses reprises de doser l'acide Salicylique, soit dans les urines, soit dans le liquide pleural, je n'avais pas trouvé parmi tous les procédés de dosage qui m'étaient offerts un procédé vraiment clinique, c'est-à-dire suffisamment approximatif et en même temps facile, pouvant servir soit dans le laboratoire restreint d'un chef de service, soit même, au besoin, dans une salle de malades.

Après avoir travaillé un peu la question, je m'aperçus que tous ces procédés, sauf un, sont basés sur des pesées; d'où utilité d'une balance, d'où frais assez considérables pour un service et entretien difficile pour un personnel hospitalier.

Il me fallait donc chercher une méthode à la fois simple et n'employant que le minimum de réactifs et de verrerie.

La méthode de MESSINGER, basée sur la recherche de l'Iode d'un composé triiodé était déjà fort pratique et permettait de se servir de la méthode volumétrique; mais il y avait là un mode opératoire qui

sans être compliqué était plus long que celui que je vais proposer.

C'est à l'action de l'eau de brome sur l'acide salicylique et la formation d'un dérivé tétrabromé probablement, que je me suis arrêté. ELION s'était déjà servi de cette méthode, mais il terminait ses opérations par la pesée d'un dérivé tribromé.

Le composé bromé une fois formé, il me suffit alors de le laver, puis de le détruire par une méthode déjà appliquée et indiquée par DENIGES dans son Traité d'analyse ; elle a pour but de transformer le brome, quelle que soit sa forme en bromure.

Ce procédé est basé sur l'action du Permanganate de Potasse et du Sulfite de Soude en milieu légèrement Sulfurique. Il est extrêmement simple et donne des résultats très satisfaisants.

Je dose alors le Bromure obtenu par la méthode de CHARPENTIER-VEULARD, c'est-à-dire par la liqueur d'Azotate d'Argent décinormale et une solution de Sulfocyanate de Potassium exactement correspondante.

Donc comme réactifs :

Eau de Brôme ;

Permanganate de Potasse ;

Bisulfite de Soude ;

Acide Sulfurique à 66 degrés.

Tous ces réactifs existent dans les services. Soit comme médicaments, soit comme réactifs.

Le Sulfocyanate de Potassium, la liqueur d'Azotate d'Argent décinormale et le sel ferrique (de préférence

de l'alun ferrico-ammoniacal), une fois préparés par le pharmacien du service, se conservent indéfiniment.

Comme matériel : Trois ou quatre verres, deux entonnoirs, des filtres, une pipette de MOHR.

Cette méthode me paraît réunir, d'une part, la facilité et la rapidité d'exécution indispensables à la clinique, d'autre part la simplicité du matériel; seule la pipette de MOHR restant parfois à se procurer.

Je donnerai le détail de cette méthode après avoir étudié les différents procédés qui ont été appliqués pour la recherche et le dosage de l'acide Salicylique dans différents liquides, soit alimentaires : lait, vins, bières ; soit organiques : urines.

Mais avant de passer à la division de ce travail, je tiens à faire remarquer que je n'ai *nullement voulu faire une œuvre chimique* ; si j'ai été obligé, par mon sujet et pour son intérêt même, à m'étendre sur des points purement chimiques, je ne l'ai fait que pour éclairer la méthode et non pas pour servir de base ou d'explication à ce procédé.

Donc, ce que j'ai voulu, c'est comme je l'ai dit antérieurement, trouver un procédé simple et d'une application facile.

Pour la partie qui m'est personnelle, je n'essaierai de donner aucune explication sur ce qui peut se produire dans la réaction dont je me sers.

Je tâcherai de faire comprendre une hypothèse (que je n'ai pas voulu vérifier) au chapitre qui trai-

tera des composés bromés de l'acide Salicylique, et qui pourra, je pense, expliquer la similitude de mes chiffres.

Quoi qu'il en soit les chiffres mêmes que j'ai toujours obtenus sont assez satisfaisants pour que l'on puisse trouver quelque utilité à cette méthode.

Voici la façon dont j'ai divisé mon travail :

Le **premier chapitre** traitera de l'acide Salicylique au point de vue chimique, de sa préparation et de ses propriétés ; je rappellerai dans le même chapitre la découverte de l'acide salicylurique et de ses propriétés.

Un **second chapitre** fera connaître l'action du Brome sur la série Phénolique et en particulier sur l'acide Salicylique.

Le **troisième** sera consacré aux différents modes de recherche de l'acide Salicylique, tandis que le **quatrième** donnera quelques méthodes de dosage.

Je traiterai alors la méthode que je propose avec tous les détails des opérations successives, puis je donnerai les résultats que j'ai obtenus soit dans l'eau distillée, soit dans l'urine dans le **chapitre V**

Je passerai ensuite, dans le **sixième** à un essai de recherche, par ma méthode, de quelques composés salicylés le SALOL et le BETOL.

Je commencerai par dire quelques mots de ces composés, de leur dédoublement dans l'organisme, puis je donnerai les résultats obtenus et la manière dont j'envisage la façon de les doser dans l'urine.

Un **dernier chapitre** donnera mes conclusions.

CHAPITRE I

Quelques mots sur la chimie de l'acide salicylique et de son dérivé l'acide salicylurique.

I. — Acide Salicylique.

L'acide Salicylique découvert en 1838 par PÉRIA (1) a surtout été étudié par GERHARDT et CAHOURS (2). Sa synthèse a été réalisée pour la première fois par KOLBE et LEUTEMAN (3).

L'acide Salicylique est de l'acide orthoxybenzoïque à la fois acide et phénol.



« L'acide Salicylique se trouve à l'état d'éther méthylique (éther sel) dans les fleurs d'Ulmaires ; dans l'essence de *Gaultheria procumbens* où il accompagna un Terpène.

La *Gaultheria punctata* et *leucocarpa* renferme ce même éther à l'état de pureté.

1. *Annales de Clin. et de Phys.*, t. LXIX, p. 298.

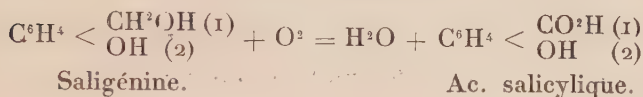
2. *Annales de Clin. et de Phys.*, 3^e série, t. X, p. 337, et t. XIII, p. 90.

3. *Annales de Chim. et de Pharm.*, t. CXV, p. 157.

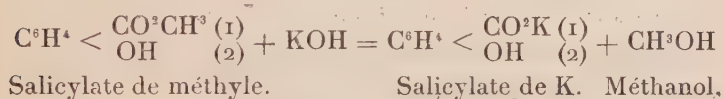
L'éther méthylsalicylique existe encore à l'état de glucosides probablement dans diverses plantes appartenant au genre *Polygala* et *monotropa*. (BOURQUELOT).

On a préparé l'acide Salicylique :

1° Par oxydation de la Saligenine ;



2° Par la Saponification de l'essence de *Wintergreen* (*Gaultheria procumbens*).



3° On l'a obtenu par la fusion avec un alcali de l'indigo, de la coumarine, de l'orthocrésol, de l'acide orthotoluène sulfonique, de la salicine ;

4° Par la diazotation de l'acide orthoaminobenzoïque ;

5° On le prépare aujourd'hui par l'action de l'acide Carbonique sur le Phénol sodé.

A froid on obtient le Carbonate de Phényle et de Sodium qui se transforme à chaud en Salicylate (BEHAL) (1).

Préparation industrielle MÉTHODE de SCHMIDT (2).

On chauffe à 180 degrés dans une cornue de fonte du

1. BEHAL. *Traité de chir. org.* Paris, 1897. T. II, p. 362.

2. SCHMIDT. *Berichte*, t. XVIII. Ref. 439.

Phénol additionné d'un peu d'eau et d'une quantité équivalente de Soude. Le léger excès d'eau et de phénol distille et il reste dans la cornue du phénol monasodé.



Ce Phénate de Sodium ainsi préparé est soumis dans une autoclave à une forte pression de gaz Carbonique ; celui-ci forme du Phénol carbonate de Sodium



qui sous l'influence combinée de la pression et de la température (120 à 130 degrés) donne naissance à son Isomère, le Salicylate de Soude.



Le Salicylate formé mis en solution dans l'eau est décomposé par l'acide Chlorhydrique.

L'acide Salicylique peu soluble se dépose sous forme de fins cristaux.

La même réaction donnerait avec la Potasse de l'acide Paraoxybenzoïque.

Propriétés physiques.

L'acide Salicylique cristallise dans l'eau chaude en longues aiguilles, dans l'alcool en prismes.

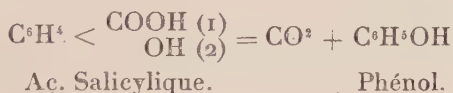
Il fond à 155 degrés et se sublime en aiguilles aplaties appartenant au système clinorhombique. Il

se dissout dans 400 parties d'eau froide et 12 parties d'eau bouillante ; l'éther, l'alcool, le chloroforme, l'éther de pétrole, le benzène en dissolvent de grandes quantités.

Les solutions présentent une saveur sucrée et acidulée.

Propriétés chimiques.

Chauffé brusquement, l'acide Salicylique donne du Phénol et de l'anhydride Carbonique.



Mais chauffé avec précaution et dans certaines conditions, il se transforme en Salicylate de Phényle ou Salol.

On peut revenir de l'acide Salicylique à l'aldéhyde et à l'alcool correspondant par l'emploi de l'amalgame de Sodium.

L'acide Salicylique est facilement oxydé par le mélange chromique.

Le chlore, le brome, l'iode produisent des dérivés substitués qui permettent d'introduire à nouveau

1. GAUTIER. *Chim. org.* Paris, 1897.

2. WURTZ. *Chir. Biol.* Paris, 1885, p. 763.

3. RICHTER. *Traduct. E.-F. Smith.* Philadelphie, 1892, t. II p. 767.

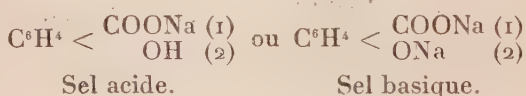
4. BÉHAL. *Chir. org.* Paris, 1897, t. II, p. 363.

des fonctions phénoliques dans la molécule d'acide.

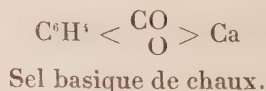
Cette réaction a été utilisée pour faire le synthèse des acides oxysalicylique, dioxysalicylique ou acide gallique.

Sels de l'acide Salicylique.

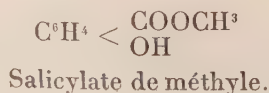
Les alcalis peuvent neutraliser soit la fonction acide seule, soit les fonctions acide et phénol à la fois. On obtient ainsi deux séries de sels *acides* ou *basique* :



Parmi les sels les plus employés, le Salicylate de Soude est d'une application thérapeutique fréquente, le sel basique de Chaux, très peu soluble, obtenu par ébullition de l'acide avec de l'eau de Chaux sert en pratique à éliminer ses deux isomères.



L'acide Salicylique peut former des éthers sels, le plus connu est le Salicylate de méthyle :



ou *essence de Wintergreen*, qui se rencontre à l'état

naturel dans les *Gaultheria* et qui a longtemps servi à la préparation de l'acide.

Il forme avec le perchlorure de phosphore des dérivés acides qui n'existent qu'à l'état étherifiés et qui ne sont pas connus libres ; il faut, pour produire ces composés, étherifier la fonction phénolique, ce qui donne alors des chlorures de méthylsalicyle, éthylsalicyle, etc., selon l'étherification employée.

Caractères analytiques.

Les sels ferriques colorent en violet intense la solution d'acide Salicylique et permettent de le distinguer par cette réaction de ses deux isomères.

II. — *Acide salicylurique.*

Après cette étude sommaire de l'acide Salicylique, nous allons voir rapidement comment il se transforme en partie par son passage dans l'organisme en un dérivé glycocollé appelé « *acide salicylurique* » par l'auteur de sa découverte.

Après avoir cité le compte rendu de ces expériences, nous donnerons les propriétés de cet acide tant au point de vue physique que chimique.

BERTAGNINI (1), en 1856, essayant de se rendre

1. BERTAGNINI. *Il Cimento nuovo*, t. 1, p. 363, et *Annales de Chim. et de Physiq.*, 3^e série, t. 47, p. 178.

compte de ce que devenaient différents acides organiques après leur passage dans l'organisme : acide Benzoïque ; Camphorique, Salicylique, etc., trouva que si certains d'entre eux supportaient sans transformation les différentes phases de ce passage, il n'en était pas de même de certains autres, tels que l'acide Salicylique qui, bien que non entièrement transformés donnaient pourtant un dérivé intéressant.

Nous allons résumer l'étude du dérivé de l'acide salicylique, le seul qui nous intéresse.

BERTAGNINI fit ingérer à son sujet d'heure en heure, et pendant deux jours, de l'acide Salicylique à la dose de 25 *centigrammes* par prise.

Le premier jour il n'y eut aucun trouble, mais le second, le sujet eut des bourdonnements d'oreilles et de l'hébétude. Il en fut de même dans une autre expérience où le sujet prit d'emblée 7 gr. 25 d'acide Salicylique.

Une heure après l'ingestion l'urine se colorait déjà en violet par addition de sels ferriques.

L'urine récoltée pour l'expérience a été réduite par évaporation à un très petit volume ; l'eau mère a été séparée des cristaux que cette concentration avait produits, puis après avoir été acidulée à l'acide Chlorhydrique on l'agita avec de l'Ether.

La solution étherée évaporée à son tour laissa un résidu qui, en liqueur aqueuse, était fortement acide et qui, après une nouvelle concentration, se prit en cristaux. Ces derniers, purifiés par expression et dissolution dans l'eau bouillante avec addition de char-

bon animal, ont été recristallisés après filtration.

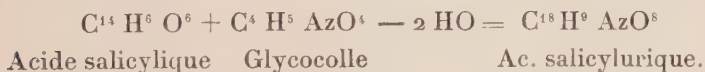
Ces cristaux étaient formés d'aiguilles fines et de prismes plus épais et brillants.

Ces derniers étaient volatils, tandis que les autres se décomposaient à température plus élevée en laissant un résidu charbonneux.

L'expérimentateur sépara ces deux substances en chauffant à 140, 150 degrés dans un courant d'air. La substance volatile était de l'acide Salicylique, la matière fixe un acide azoté analogue à l'acide hippurique et renfermant (en équivalent) :



La composition de cet acide prouve que l'acide Salicylique fixe quelque part dans l'organisme les éléments du Glycocolle comme le fait l'acide Benzoïque en se transformant en acide Hippurique. Ce nouvel acide que l'on peut appeler *acide Salicylurique* prend évidemment naissance en vertu de la réaction :



Bouilli pendant plusieurs heures avec l'acide Chlorhydrique il se décompose en acide Salicylique et Glycocolle.

L'acide Salicylurique cristallisé dans une solution aqueuse forme des aiguilles minces et brillantes. Il possède une réaction fortement acide et une saveur amère.

1. Wurtz. *Chim. biol.* Paris, 1898, p. 763.

Très soluble dans l'eau bouillante, il se dissout aussi dans l'alcool et dans l'éther.

Il fond à 160 degrés. A 170 degrés il commence à brunir et à se décomposer.

Ses solutions colorent les sels ferriques en violet. Ses sels sont cristallisables.

CHAPITRE II

Réaction du Brome sur la série phénolique et en particulier sur l'acide Salicylique.

On sait qu'en faisant réagir l'eau de Brome sur le phénol ordinaire, l'orcine, la résorcine, les acides oxy-benzoïques on substitue après trois équivalents d'hydrogène benzinique, en présence d'un excès de réactif, un quatrième équivalent d'hydrogène : l'hydrogène phénolique ou de l'hydroxyle.

Voici quelques mots sur ce composé :

En agitant le Tribromophénol en poudre avec de l'eau de Brome, il se forme des quantités assez considérables de Tribromophénol bromé ; mais la transformation n'est jamais totale parce que le Tribromophénol se groupe facilement en grumeaux.

La transformation du Phénol est complète et certaine si l'on prend le procédé suivant, qui repose sur le même principe que la marche de BÉNÉDIKT.

On dissout l'équivalent de Phénol dans soixante litres d'eau et on verse rapidement dans un volume quelconque de cette solution un volume égal d'eau de Brome contenant au moins 20 grammes de Brome par litre.

On agite seulement quelques instants et on laisse en repos le liquide trouble couleur jaune citron ; puis après quelques minutes, quand le liquide s'éclaircit par le haut et reprend la couleur de l'eau de Brome, on agite un peu de nouveau. Le Tribromophénol bromé se dépose alors en écailles cristallines. Ces écailles lavées à l'eau froide et séchées dans le vide ont donné 78,32 o/o de Brome (Théorie 78,05 o/o pour $C^6H^3Br^3OBr$). Recristallisées dans le chloroforme bouillant, elles ont donné 78 o/o de Brome.

Ce produit abandonne très facilement un équivalent de Brome ; on a trouvé la réaction suivante très sensible et qui dénote bien la fonction chimique de ce composé : un cristal d'Iodure de Potassium touché par un cristal de Tribromophénol bromé dégage de l'Iode ; si on agite avec une dissolution d'Iodure de Potassium, il se fait la réaction suivante :



comme le prouve le dosage de l'Iode par l'acide Sulfureux ; en même temps se dépose du Tribromophénol qui donne à l'analyse par la Chaux 72,48 o/o de Brome (Théorie 72,50 o/o).

Pour éviter les complications qui proviennent de l'agglomération de la matière en poudre, on dissout le Tribromophénol bromé dans un peu de Chloroforme, et à cette solution on ajoute de l'Iodure de Potassium dissous en agitant fortement et on dose l'Iode libre de l'Hyposulfite de Soude.

0,7323 de Tribromophénol bromé donnent 0,4527 d'iode au lieu de 0,4529 (Théorie).

Ainsi le Brome substitué à l'Hydrogène de l'hydroxyle est enlevé totalement par l'Iodure de Potassium et peut se doser par ce moyen.

La facilité avec laquelle s'opère cette régénération, distingue nettement le quatrième équivalent de Brome.

L'alcool froid décompose aussi le Tribromophénol bromé, après douze heures de contact, l'eau précipite de sa solution un mélange de Tribromophénol et de Tribromophénol bromé, au bout de quelques jours, le Brome libre ayant disparu, l'eau ne précipite alors que du Tribromophénol.

La Soude (1 équivalent = 1 litre) dissout le Tribromophénol bromé à la température ordinaire ou le décompose d'une manière analogue.

ROBERTSON, s'est également occupé de la question des composés bromés du phénol, mais surtout au point de vue de l'action de l'acide Nitrique sur ses différents composés.

J'ai à mon tour cherché d'abord par le calcul à me rendre compte de la marche de la réaction et quel dérivé bromé j'obtenais, c'est-à-dire si j'arrivais au Tribromo ou au Tétrabromophénol, celui que **Werner** appelle le Tribromophénol bromé, et **BÉNEDIKT** le Tribromophénate de brome.

D'après ces calculs je me suis convaincu par expérience que c'était bien au dernier de ces composés que j'avais affaire c'est-à-dire à :



En effet, dans mes expériences de contrôle, c'est toujours les chiffres correspondant à ce dernier composé qui me donnèrent des résultats assez rapprochés de la réalité. En voici un exemple entre autre : Avant de l'énoncer je donnerai d'abord la marche du calcul pour les deux composés, puis les résultats comparatifs en prenant l'un ou l'autre de ces chiffres.

Si nous considérons d'abord le Tribromophénol, la formule étant :



nous voyons que 1 gramme d'acide Salicylique équivaut à 2 gr. 3985 de Tribromophénol, — le Brome contenu dans cette quantité de Tribromophénol est de 1 gr. 7390 et ce Brome correspond à 2 gr. 3476 d'Argent.

Ces 2 gr. 3476 d'Argent correspondent donc à 1 gramme d'acide Salicylique, et en faisant le calcul inverse nous nous rendrons compte que 1 gramme d'Argent équivaut pondéralement à 0 gr. 4259 d'acide Salicylique.

En résumé :

1 gr. Acide Salicyl., équivaut à 2 gr. 3985 tribromophénol.
2 gr. 3985 Tribromophénol équivalent à 1 gr. 7390 de Bromure.
1 gr. 7390 de Bromure équivaut à 2 gr. 3476 d'Argent.

Et en dernier lieu :

1 gr. d'Argent équivaut à 0,4259 d'acide Salicylique

Voici maintenant le même calcul pour le dérivé Tétrabromé :

1 gr. acide Salicylique équivaut à 2.9710 Tétrabromophénol.
2.9710 de Tétrabromophénol équivalent 2.3188 de Brome.
2.3188 de Brome équivalent 3.1304 d'Argent.

Et en opérant de même que la première fois pour l'équivalence pondérale de l'Argent et de l'acide Salicylique nous voyons que

Si 1.304 d'Ag. équivaut à 1 gramme d'ac. Salicylique.
1 gramme d'Argent équivaldra à 0 gr. 3194 d'ac. Salicylique.

Pour résumer ces deux calculs nous avons

- 1^{er} cas : Tribromophénol : 1 gr. Argent équivaut à 0 gr. 4259 d'ac. Salicylique.
2^e cas : Tétrabromophénol : 1 gr. Argent équivaut à 0 gr. 3194 d'ac. Salicylique.

Possédant ces chiffres, nous allons donner immédiatement un exemple du calcul et des résultats obtenus dans une expérience de contrôle choisie au hasard, on la retrouvera d'ailleurs dans la partie réservée aux expériences préliminaires, ou plutôt de contrôle.

J'ai pris une solution contenant 1.205 grammes d'acide Salicylique pour 1000 cmc. d'eau. Je pris 10 cmc. de cette solution et les étendis à 100 grammes, j'avais donc une solution à 0.1205 0/00.

C'est de cette dernière solution que je parlerai ici. Je mesurai 10 centimètres cubes de ce liquide et y ajoutai l'eau de Brome en excès.

Je filtrai, puis jetant le filtre dans un verre de Bohême, je mélangeai les réactifs Sulfite de Soude, acide Sulfurique, Permanganate dans l'ordre où je

les ai énoncés. J'ai alors filtré le précipité et dans cette liqueur j'ai dosé le Brome par la méthode CHARPENTIER-VEULARD.

Voici les chiffres résultant des calculs :

10 centimètres de la solution sont saturés par 0 cc. 4 de la solution d'argent N/10 donc nous avons :

$$0 \text{ cc. } 4 \text{ Ag N/10} = 0 \text{ gr. } 04 \text{ d'Argent.}$$

Ce qui par le calcul correspond à une quantité déterminée d'acide Salicylique qui variera évidemment, soit que nous prenions le coefficient correspondant au Tribromophénol, soit au contraire que nous nous servions de celui du Tétrabromophénol.

Commençons par le premier de ces chiffres :

1 gramme d'Ag. équivaut à 0 gr. 4259 d'acide Salicylique. Ce qui nous donne en faisant le calcul 0 gr. 0017 ou en multipliant par arriver à 1 litre, 0 gr. 170 au lieu de 0,1205. Si maintenant nous nous servons de la formule du Tétrabromophénol et du chiffre résultant de cette dernière, nous verrons qu'il se rapproche beaucoup plus de la réalité, quoique quelquefois légèrement supérieur. Ce chiffre est 0,3194, donc si nous faisons la même opération que précédemment, nous voyons que ce chiffre multiplié par le nombre de centimètres cubes ou fractions de centimètres cubes qui correspondent à un chiffre connu d'Argent, donne ainsi la quantité d'acide Salicylique contenu dans la liqueur. En effet, 0,3194 multiplié par 0,04 me donne 0,00127, ce qui nous donne 0 gr. 127 par litre. Il est évident

que ce chiffre se rapprochant beaucoup plus de la réalité, c'est à ce dernier chiffre que nous nous adresserons pour les expériences que nous aurons à faire.

Donc il me semble résulter de ces calculs que ce n'est pas au dérivé tribromé, mais bien au dérivé tétrabromé que nous avons affaire, et que c'est par la formule $C^6 H^2 Br^4 OBr$ que nous aurons à rédiger tous les calculs.

CHAPITRE III

Des différents modes de recherche de l'acide Salicylique.

La plus connue de ces méthodes est basée sur la formation du Salicylate ferrique.

Lorsqu'on ajoute quelques gouttes d'une solution de Perchlorure de fer très étendue à une solution de Salicylate de soude il se produit une coloration violette qui peut paraître noire si la quantité de Salicylate est assez grande, et qui paraît rosée lorsque le Salicylate est très étendu.

Les acides minéraux peuvent par leur présence affaiblir la sensibilité de cette réaction.

La sensibilité de cette réaction bien étudiée par **Ferreira de Silva** a été évaluée par lui à 1.200.000 c'est-à-dire à 5 milligrammes d'acide Salicylique par litre de liquide.

D'autres réactions ont été proposées pour rechercher l'acide Salicylique.

Curci (1) propose un réactif spécial des produits salicylés. Il fait réagir à cet effet du Zinc et de l'acide Nitrique dans le milieu contenant l'acide Salicylique.

1. Curci (*Arch. Ital. de Biologie*, XXIX, 239).

Spica (1) se base sur la nitrification de cet acide pour en chercher le dosage. Nous reviendrons sur ces différentes méthodes.

En effet, s'il est facile de déceler l'acide Salicylique dissous dans l'eau ; il est évidemment plus difficile de le découvrir dans les liquides organiques tels que lait, urines, fèces ou dans des liquides alimentaires tels que le vin ou la bière. C'est en général dans ces matières que cette analyse est intéressante, c'est donc pour ces différents ingrédients que j'expliquerai les méthodes de recherche effectuées jusqu'ici.

Il s'agissait en effet d'obtenir l'acide Salicylique à l'état de pureté la plus parfaite et dans un dissolvant tel qu'il laisse de côté les différentes matières capables de donner des réactions avec les réactifs proposés et produire par cela même des erreurs qui, nous le verrons, peuvent se produire malgré l'étude approfondie des réactions et le doigté des expérimentateurs.

Nous débuterons dans cette étude par la recherche de l'acide Salicylique dans les vins et les bières ; dans un paragraphe suivant, nous verrons quelles sont les méthodes qui ont été suivies pour la même recherche dans les urines ou dans les matières fécales.

J'ai dû limiter mes recherches bibliographiques

1. Spica (*Gazette Chim. Ital.*); t. XXV; p. 207.

pour ne pas remonter trop haut et allonger inutilement ce travail, je me suis arrêté à l'année 1877. Je donnerai par conséquent les différents travaux faits sur la question qui nous intéresse depuis cette date en allant vers l'époque actuelle.

C'est en 1877 que Ed. ROBINET (1) donne une méthode de recherche de l'acide Salicylique dans le vin. Voilà la méthode :

Prenez 100 centimètres cubes de vin suspect, précipitez par un excès d'Acétate de Plomb, puis additionné d'acide Sulfurique qui précipite le Plomb, filtrez. Traitez le liquide parfaitement clair par quelques gouttes d'une solution de Perchlorure de fer ; s'il y a dans le vin la moindre trace d'acide Salicylique il se produit une belle coloration violette qui caractérise parfaitement la présence de cet acide.

On peut ainsi constater la présence de 2 à 3 milligrammes d'acide par litre de vin.

Il est très important dans cette recherche de tenir à ce que le liquide contienne toujours un excès d'acide Sulfurique ; il faut en même temps s'assurer si l'acide Sulfurique ne contient pas de sels de fer.

Pour cela on renverse l'opération, on étend l'acide à employer de dix fois son poids d'eau et on ajoute une faible dose d'acide Salicylique.

Si l'acide Sulfurique contient la moindre trace de fer, il y a immédiatement coloration en violet. Cette expérience est d'une extrême sensibilité.

1. ROBINET. Comptes rendus, 84, 1321.

Elion (1) en 1889 propose pour la recherche de l'acide Salicylique dans les bières un mode opératoire dont voici la teneur :

A 25 centimètres cubes de la bière à analyser, qu'on acidule par quelques gouttes d'acide Sulfurique, on ajoute 40 centimètres cubes d'Ether, puis on agite violemment. On décante alors et on évapore l'Ether dans une capsule de porcelaine.

Le résidu traité par une solution très étendue de Chlorure ferrique prend, même lorsque la quantité d'acide Salicylique est très faible, une coloration violet brun ; si la quantité d'acide Salicylique est plus forte, on obtient une coloration violette intense. Ce procédé peut déceler la présence de 4 milligrammes d'acide Salicylique par litre.

En 1893, LINDEMANN et MATTEN (2), se basant sur les coefficients de partage entre divers liquides non miscibles, proposent une méthode d'épuisement un peu différente de la précédente, la voici :

A une couche de bière fortement acidifiée par l'acide Sulfurique on superpose une couche d'Ether ou de Benzine. On laisse au contact vingt-quatre heures. On distille la Benzine, on reprend le résidu par 2 ou 3 centimètres cubes d'eau distillée. Le liquide filtré est épuisé de nouveau par agitation au moyen de Benzine. La Benzine séparée de l'eau et filtrée, on ajoute 1 ou 2 centimètres cubes d'eau contenant quelques gouttes de Perchlorure de fer ; on agite,

1. ELION. *Dinglerin's polytechn. Journ.*, t. 270, p. 431.

2. LINDEMANN et MATTEN (*Soc. chim.*, t. IX, p. 446).

et par agitation la couche aqueuse se colore en violet.

En 1898, CURCI (1) propose un réactif spécial pour déceler la présence de produits salicylés ; voici sa manière d'opérer :

On place 1 gramme de Zinc dans 6 centimètres cubes d'acide Nitrique (D. 1,4) jusqu'à cessation des vapeurs nitreuses.

Le liquide donne avec les composés salicylés à 1/60.000 vers 30 à 40 degrés une coloration bleu violet qui passe par l'ébullition au rouge vineux.

La même année SPICA (2) donne sa méthode basée sur la nitrification des sels salicylés.

Pour l'extraction il se sert de l'éther.

Dix centimètres cubes de vin sont agités avec un volume égal d'éther ; l'éther est chassé au bain-marie et c'est sur ce résidu que s'opère la réaction : On ajoute à ce résidu une goutte d'acide Nitrique concentré puis deux à trois gouttes d'Ammoniaque. On dilue avec 1 centimètre cube d'eau distillée et on trempe dans la liqueur un fil de laine préalablement dégraissé.

S'il y a de l'acide Salicylique, la laine se colore en jaune serin.

Cette méthode a permis de déceler 1/500.000 d'acide salicylique.

En 1901 PEREIRA (3) dénonce dans l'épuisement des

1. CURCI. *Arch. Ital. de Biolog.*, t. XXIX, p. 239).

2. SPICA. *Gaz. chim., Ital.* t. XXV, p. 207.

3. PEREIRA. *Soc. chim.* t. XXV, p. 475.

vins par l'éther, surtout pour des quantités dépassant 50 centimètres cubes, la présence d'une substance donnant avec le Perchlorure de fer une coloration rose violacé très analogue à celle donnée par l'acide Salicylique.

Déjà L. MEDICUS avait proposé de ne pas dépasser dans les extractions de vins ce chiffre de 50 centimètres cubes qui en général ne donne pas cette réaction secondaire.

Mais CURCI ajoute que même avec cette quantité relativement faible on peut encore trouver la réaction donnée par cette matière inconnue, et pour éviter cette cause d'erreur il faudrait étudier cette matière, ses relations avec les vins ainsi que ses variations.

En 1900, FEREIRA DE SILVA (1) avait déjà parlé de cette question des causes d'erreur dans la recherche de l'acide Salicylique dans les vins.

C'est à propos d'une expertise douanière de vins portugais au Brésil qu'il indiqua cette erreur.

Il refit lui-même l'expérience avec deux méthodes différentes : celle de PELLET-GOUBERT-BAUDRIMONT (2), et la *méthode officielle allemande* de 1896.

Dans cette dernière on pratique l'extraction par le mélange d'éther et d'ether de pétrole à volumes égaux, après évaporation on extrait une seconde fois. Il a

1. FEREIRA DE SILVA (*Arch. de Clin. analyt.*, t. VI, p. 11.

2. CHEVALIER et E. BAUDRIMONT (*Dict. des altér. et fals. des subst. alum.*), 7^e éd. Paris, 1897, p. 253.

opéré avec cette méthode sur 50 centimètres cubes de vin.

Il refit les mêmes expériences avec la méthode PELLET-GOUBERT-BAUDRIMONT, usitée depuis 1888 dans les laboratoires du Brésil.

La méthode allemande ne lui a jamais donné de coloration violette malgré son extrême sensibilité.

Avec la méthode PELLET-GOUBERT-BAUDRIMONT il obtenait une légère couleur rose ou violet rouge facile à prendre pour la coloration donnée par l'acide Salicylique ; il employait pour cette méthode 200 centimètres cubes de vin.

On voit que, comme l'avait déjà dit **Médicus**, il ne faudrait pas se servir de plus de 50 centimètres cubes de vin.

La méthode allemande ne saurait être incriminée. dans ces analyses sa sensibilité étant de 1/200.000 permet de reconnaître 5 milligrammes d'acide Salicylique par litre ou 5 décigrammes par hectolitre, quantité inférieure à celle exigée pour la conservation de ce liquide et variant de 3 à 8 grammes par hectolitre.

En 1901 le même auteur (1) fait une recherche comparative sur les diverses méthodes employées pour la recherche de l'acide Salicylique dans les vins.

Il cite pour les analyses au point de vue des résultats les méthodes de :

1. FERREIRA DE SILVA. *Soc. chim.*, t. XXV, p. 726.

PORTELÉ : Précipitation du tannin par la gélatine puis extraction à l'éther ;

WEIGERT : Extraction par l'alcool Amylique ; 50 centimètres cubes de vin pour 5 centimètres cubes d'alcool Amylique ;

CH. GIRARD : Extraction à l'éther et à l'azotate mercurique peu sensible et compliquée.

Il insiste plus sur les méthodes *allemandes*.

Celle de 1896 à extraction par le mélange éther et éther de pétrole préconisée par TAFTE et RÖSE.

La seconde méthode allemande à l'éther et l'éther de pétrole et après évaporation, deuxième extraction au benzène.

WECQUER et RÄSLER, extraction au Sulfure de carbone, mais qui dissout faiblement l'acide Salicylique ; et des mêmes auteurs une extraction au chloroforme.

Le *laboratoire de Paris* fait l'extraction à l'éther avec seconde extraction au benzène.

La limite de la sensibilité de la liqueur au Perchlorure de fer est plus ou moins bien indiquée dans la plupart des traités d'analyse.

Le maximum de sensibilité paraît être 1/200 000, soit 5 milligrammes par litre d'eau. Au-dessous, la réaction cesse d'être caractéristique. Quant à la sensibilité des différentes formes d'extraction, elle varie avec le solvant, la quantité de vin employée et le volume final du liquide.

Voici un tableau comparatif de la sensibilité de ces différentes méthodes dressé par FEREIRA DE SILVA :

<i>Méthode allemande</i> , 1896.....	1.200 000
<i>Méthode allemande modifiée</i> (2 ^e traitement au benzène).....	1.100 000
<i>Weigert et Röse</i> . Sulfure de carbone.....	1.100 000
« « Chloroforme.....	1.100 000
<i>Laboratoire de Paris</i>	1.33000

En 1901 également A. BACHICCIO (1) donne une nouvelle méthode de recherche dans le lait.

Cette méthode de recherche de l'acide Salicylique est la même qui peut servir pour la bière.

Cinq à six centimètres cubes de lait seront mélangés dans un verre de Bohême avec la même quantité d'eau et cinq gouttes d'une solution d'Azotite de soude à 10 o/o et cinq gouttes d'une solution également à 10 o/o de Sulfate de cuivre. On chauffe assez longtemps au bain-marie. La caséine précipitée tombe au fond et le sérum clair surnageant au-dessus est coloré peu ou beaucoup, suivant sa teneur en acide Salicylique.

Il n'y a pas d'acide Salicylique si la partie liquide du coagulum est colorée en gris bleu.

Cette réaction est si sensible qu'avec une teneur de 1,20000 d'acide Salicylique on peut encore le déceler.

Cette réaction est très sûre et très facile à faire.

En 1902, TAFTE (2) revient sur l'extraction à

1. A. Bachiccio. *Giorn. della Real. Soc. Ital. d'Igiene*, XXIV, p. 291.

2. Taffe. *Soc. Chim.*, t. XXVII, p. 701.

l'éther de pétrole. Depuis nombre d'années il proposait de substituer dans la recherche de l'acide Salicylique pour son extraction et sa coloration au Perchlorure de fer, au dissolvant extracteur éther éthylique, dont les inconvénients étaient connus, un mélange, à parties égales par exemple, d'éther éthylique et d'éther de pétrole, mélange d'autant plus anhydre qu'il s'appauvrit d'éther ordinaire.

Ce procédé est devenu la base des recherches dites *méthode allemande*.

FEREIRA DE SILVA a eu avec elle ses résultats les plus sensibles, sans s'exposer à confondre l'acide Salicylique des aliments avec celui du jus fermenté de raisins qui en contient toujours des traces.

Même, tout bien considéré, cet auteur pense que l'on peut se servir de l'éther de pétrole ($D < 700$) bien purifié de ses homologues supérieurs.

L'emploi de l'éther de pétrole, mauvais dissolvant de l'eau et des acides minéraux libres, évite la dissolution de traces d'acide Chlorhydrique mis en liberté par acidification des aliments salés entre autres (poissons conservés).

Les acides minéraux diminuant l'intensité de coloration du Salicylate ferrique et par cela même de la réaction à obtenir:

Voilà donc, résumés en quelques pages, les principaux modes de recherches de l'acide Salicylique dans les matières alimentaires: nous passons dans le paragraphe qui va suivre aux mêmes recherches effectuées dans les urines. Le mode opératoire varie

un peu, mais les principes restent à peu de chose près les mêmes.

C'est NEUBAUER et WOGEL (1) qui nous donneront les principales méthodes et leurs explications.

L'acide Salicylique ayant été ingéré, lorsqu'on examine l'urine évacuée au polarimètre, on remarque qu'elle dévie à gauche le plan de polarisation.

Elle réduit également la liqueur de FEHLING, cette dernière faible.

En présence de 5 milligrammes d'acide Salicylique et, peut-être moins, par litre d'urine, la recherche directe par le Perchlorure de fer marche encore bien.

Pour des quantités plus petites d'acide Salicylique il faudra séparer cet acide des autres parties constituant de l'urine qui pourrait donner une coloration similaire à celle du Perchlorure de fer. Elle marchera beaucoup mieux après l'application du procédé de ROBINET (2).

Comme nous l'avons vu précédemment dans ce travail, l'urine sera déféquée à l'Acétate de plomb neutre et le plomb en excès sera précipité par l'acide Sulfurique.

Le filtrat sera traité par le Perchlorure de fer. La liqueur peut être colorée en rouge par de l'Acétate ferrique ; on y ajoute alors quelques gouttes d'acide Sulfurique très étendu qui fait disparaître la colora-

1. NEUBAUER et WOGEL. *Analyse der Harn*. Wiesbaden, 1898, p. 609.

2. ROBINET. *Comptes Rendus*. T. 84, p. 1321.

tion rouge, et le violet du Salicylate ferrique reparaît pur.

Si le filtrat du précipité de plomb se trouble quelquefois trop vite on ne doit pas laisser longtemps ce liquide en présence du Perchlorure de fer.

CAZENEUVE (1) réduit 100 centimètres cubes d'urine à 10 centimètres cubes ; on ajoute 5 centimètres cubes d'acide Chlorhydrique et 20 grammes de Chaux vive ; on dessèche le mélange et on l'épuise dans un appareil à extraction avec du chloroforme.

Le chloroforme sera retiré par distillation et le résidu recristallisé dans de l'eau distillée. L'urine contient-elle seulement des traces d'acide Salicylique, les cristaux ne se formeront pas et on devra se contenter de le rechercher par le Perchlorure de fer.

Sous cette forme, la preuve de la présence de l'acide Salicylique est beaucoup plus sensible que par la recherche directe dans l'urine par le Perchlorure de fer.

Les mêmes auteurs donnent également un procédé de **Piccard** pour séparer l'acide Salicylique de l'acide Salicylurique.

PICCARD (2) évapore l'urine et traite le résidu par l'alcool, il évapore et le résidu restant préalablement acidifié par l'acide Sulfurique étendu sera traité par l'éther dans lequel l'acide Salicylique et l'acide Salicylurique seront mis en dissolution.

1. Cazeneuve. *Zeitschr. für analyt. chim.*, XIX, p. 254.

2. PICCARD. *Ber. d. chim. gesellschaft*, VIII, p. 817.

Après sublimation, on obtient l'acide Salicylique pur. Les deux acides se laissent aussi séparer par cristallisation dans l'éther et la benzine dans lesquels l'acide Salicylique cristallise le premier (en solution très riche.)

CHAPITRE IV

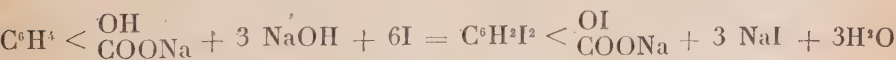
Quelques méthodes de dosage de l'acide Salicylique.

Si les procédés de recherche sont nombreux et variés, il n'en est pas de même des modes de dosage qui eux se réduisent à trois ou quatre méthodes.

A l'inverse de ce que nous avons fait dans le chapitre précédent, nous commencerons par les auteurs les plus rapprochés de nous pour finir par ELION qui date de 1889 et qui se trouve être l'auteur dont la méthode se rapproche le plus de la nôtre.

Nous commencerons donc par la méthode de MESSINGER (1) à la date de 1901.

Cet auteur se sert de l'Iode pour doser l'acide Salicylique et voilà l'équation dont il se sert pour ses calculs :



Voilà le mode opératoire : Une quantité d'acide connue est dissous dans la quantité nécessaire d'al-

1. MESSINGER, *Soc. Chim.*, t. XXVI, p. 442.

cali, puis on chauffe à 60 ou 65 degrés et on ajoute en agitant l'Iode en solution décimormale jusqu'à coloration brun foncé; la solution doit être parfaitement claire, sa température s'abaisse à environ 35 degrés. On porte de nouveau à 60 ou 65 degrés en agitant fortement pendant au moins cinq minutes : il se fait un précipité rouge et au-dessus, la liqueur doit être claire, on laisse refroidir, on filtre, après avoir acidifié avec de l'acide Sulfurique étendu, à travers un filtre à plis.

On lave, et on titre l'Iode restant en excès par l'Hyposulfite de soude.

D'ailleurs la même méthode peut s'appliquer au Phénol, Thymol et Naphtol β .

En 1897 BONDZYNSKY (1) donne un travail sur la recherche de l'acide Salicylique dans l'organisme. Il n'emploie que la pesée, c'est d'ailleurs la méthode la plus sûre et la plus répandue.

Voici ce que dit notre auteur :

Dans la recherche de l'acide Salicylique dans l'urine il faut d'abord évaporer jusqu'à consistance sirupeuse après addition de soude.

Le résidu obtenu est extrait avec de l'alcool absolu. L'extrait alcoolique étendu d'eau acidifiée à l'acide Sulfurique est extrait à l'éther acétique. Le résidu sera chauffé au bain-marie à reflux pendant six heures avec de l'acide Chlorhydrique étendu. Le restant

1. H. BONDZYNSKY. (*Jahresb Thier.*, t. XXVI, p. 100). *Gazet Lekarska*, 1897, t. XXIV, p. 367). (*Arch. fur experim. Pathol. und Pharmak.*, t. XXXVIII, p. 88 à 98.

sera extrait de nouveau à l'éther. Après évaporation le résidu sera dissous dans l'Ammoniaque et précipité par l'Acétate de plomb.

Le précipité sera décomposé par la lessive de Soude. Le filtrat évaporé et acidifié sera extrait plusieurs fois à l'éther (dans l'appareil de Schvartz) une première fois douze à dix-huit heures, la deuxième et la troisième fois quatre heures.

Pour les matières fécales, l'extraction à l'alcool absolu sera faite à fond, un certain nombre de fois. L'alcool évaporé, l'extrait mis dans l'appareil de Schwartz sera acidifié et réduit par extraction.

Le résidu éthéré sera chauffé avec de l'eau distillée, et la graisse, la cholestérine, etc., les globules qui y sont retenus ainsi que les éthers de l'acide Salicylique non décomposés seront dissous dans de l'esprit-de-vin chaud et saponifiés avec de la Potasse alcoolique. Après évaporation, le résidu savonneux sera dissous dans à peu près un litre d'eau.

Les acides gras seront mis en liberté par l'acide Sulfurique. Le filtrat ne contenant plus maintenant que de l'acide Salicylique pur sera neutralisé, concentré de nouveau, acidifié et extrait avec de l'éther.

L'acide contenu sera purifié avec de l'Acétate de plomb et ensuite traité comme précédemment.

Dans les recherches de contrôle, on retrouvera 100,7 à 100,9 pour cent de l'acide Salicylique qu'on y aura ajouté.

Les fèces ne contenaient pas d'acide Salicylique; il avait été complètement résorbé.

Le salicylate d'éthyle fut également résorbé et 91, 1 pour cent de l'acide qu'il contenait retrouvé dans les urines.

Notre éminent professeur, ARMAND GAUTIER (1), dans son excellent *Traité de chimie biologique*, nous donne une méthode de dosage basée sur acidimétrie. Voici comment il opère :

L'urine est évaporée à 40 degrés dans le vide au dixième de son volume. L'extrait acidulé d'acide Phosphorique est épuisé par l'éther.

Celui-ci est filtré, distillé et le résidu qu'il laisse est repris par l'eau bouillante et divisé en deux parts, A et B.

Un dosage acidimétrique fait sur la portion A donne la somme des deux acides Salicylique et Salicylurique. La portion B est chauffée à 160 degrés pendant deux heures. L'acide Salicylique disparaît entièrement, il ne reste plus que l'acide Salicylurique que l'on peut dissoudre par l'éther et doser à son tour par la méthode acidimétrique.

Pour cent parties d'acide Salicylique ingéré, on trouvé dans les urines soixante-dix à quatre-vingts parties d'acide Salicylique et Salicylurique. Ce dernier représente 18 à 37 pour 100 de la quantité totale de ces acides qui est passée dans les urines (2).

Nous allons examiner maintenant le travail d'ELION, qui est le dernier de la série de ces modes de

1. A. GAUTIER, *Chim. biol.*, Paris, 1897, p. 654.

2. *Thèse de M^{lle} G. CHOPIN*, Paris, 1889.

dosage et qui se rapproche le plus, par la méthode qu'il emploie pour précipiter l'acide Salicylique, de la méthode que je vais exposer dans le chapitre suivant. Comme suite à sa méthode de recherche terminée par une extraction à l'éther, voilà ce qu'il ajoute pour le dosage de l'acide Salicylique.

Pour ce dosage on ne peut pas peser directement le résidu de l'évaporation de l'éther, on risquerait de trouver des chiffres trop forts.

Il en serait de même si l'on dosait l'acide Salicylique ainsi séparé par une liqueur alcaline titrée, la méthode colorimétrique est de même insuffisante pour doser avec quelque certitude l'acide Salicylique dans la bière.

La méthode proposée par ELION (1) repose sur le principe suivant :

Quand on ajoute un excès d'une solution aqueuse de Brome à une solution aqueuse d'acide Salicylique, il se forme, suivant M. BENEDIKT (2) le Tribromophénate de brome $C^6H^3Br^3OBr$ qui, selon M. WERNER (3), se convertit en présence d'Iodure de potassium en Tribromophénate de potassium, suivant l'équation :



Pour doser l'acide Salicylique voici comment il convient d'opérer :

1. ELION (*Dingler's polytechnischer Journ.*, t. 270, p. 431) et (*Recueil des Travaux chimiques des Pays-Bas*, t. VII, p. 211).

2. BENEDIKT (*Wiener Akadem. Ber.*, t. LXXIX, p. 871).

3. WERNER, *loc. cit.*

On ajoute à la bière un peu d'acide Sulfurique et on agite quatre fois avec le double de son volume d'éther. Après le deuxième épuisement tout l'acide Salicylique est déjà passé dans l'éther. Pour l'isoler, on ajoute l'éther avec une solution aqueuse étendue d'alcali caustique ; cette liqueur alcaline est évaporée à petit volume au bain-marie, on l'acidule faiblement par l'acide Sulfurique et on traite alors par une solution aqueuse de Brome employée en excès.

On ajoute de l'Iodure de potassium et de l'empois d'amidon, puis une solution de Sulfate de sodium pour enlever l'Iode mis en liberté ; le mélange est alors distillé dans la vapeur d'eau jusqu'à ce qu'il ne passe plus de Tribromophénol.

Le liquide distillé d'où la plus grande partie du Tribromophénol s'est déposée sous forme de flocons blancs, est agité avec de l'éther qui dissout tout le produit resté en solution, la solution éthérée est évaporée dans une capsule tarée, au bain-marie à une douce chaleur. Le résidu séché sur de l'acide Sulfurique est pesé.

Voici d'après **Elion** les résultats obtenus qui peuvent indiquer le degré d'approximation que l'on peut atteindre avec cette méthode :

Expér.	Ac. salicyl. ajouté	Tribromoph. trouvé	Ac. salicyl. trouvé
I	50 mgr.	113 mgr. 6	47.4
II	100 mgr.	231 mgr. 3	96.5
III	200 mgr.	451 mgr. 2	188.2
IV	200 mgr.	454 mgr. 6	189.6
V	10 gr.		9.5
VI	20 gr.		19.3
VII	40 gr.		37.6
VIII	40 gr.		37.9

CHAPITRE V

Dosage par notre procédé.

Nous diviserons ce chapitre en plusieurs paragraphes distincts :

1° Essai de dosage sur une solution à teneur connue ;

2° Dosage sur l'urine dans laquelle on a ajouté du Salicylate de soude ;

3° Dosage dans l'urine après passage du Salicylate de soude dans l'organisme.

Avant de passer à l'étude des expériences que j'ai faites soit pour m'assurer de l'utilité de la méthode que je propose, soit aux applications qui en résultent ; je vais commencer par exposer d'une façon détaillée les grands points de la méthode au point de vue pratique.

Comme je l'ai déjà expliqué le dosage se divise en trois parties très distinctes.

I. — *Précipité de Tétrabromophénol.*

Quel que soit le liquide dans lequel le Salicylate soit en solution, la manière de procéder est toujours la même.

Je prends une quantité exactement mesurée de la liqueur contenant l'acide Salicylique à doser, puis j'ajoute du Brome en solution saturée dans l'eau, jusqu'à coloration nettement rouge ; la couleur jaune persistante suffira quand la solution sera incolore. Au moment de l'addition du Brome il se forme un précipité plus ou moins caillibotté de Tétrabromophénol ; avoir soin d'agiter pour faire pénétrer le Brome entre toutes les particules du précipité. Ceci fait on a plus qu'à le filtrer. L'opération n'est pas toujours très simple particulièrement avec l'urine. En effet, si dans la liqueur aqueuse lorsque le précipité est caillibotté la filtration est très facile, elle devient d'une lenteur désespérante avec l'urine.

De plus lorsqu'au lieu de se former en caillots le précipité est très ténu, il faut filtrer un nombre de fois suffisant pour arrêter tout le précipité. Quand le liquide bromé est absolument clair on lave le précipité à l'eau distillée jusqu'à ce qu'une ou plusieurs gouttes de cette eau de lavage versées dans un tube contenant une dissolution d'Azotate d'argent ne se trouble plus, quelle que soit la quantité de liquide de lavage ajoutée dans l'éprouvette.

Nous avons donc sur le filtre le précipité de Tétrabromophénol lavé.

II. — *Destruction du Tétrabromophénol formé.*

J'ai déjà dit que cette méthode de destruction m'avait été inspirée par une méthode de DÉNICÈS. Voici le mode opératoire :

Après avoir laissé égoutter le filtre contenant le Tétrabromophénol, que j'ai eu soin de réunir au fond du filtre, je le plonge avec une baguette de verre dans le fond d'un verre à précipité. Puis j'ajoute quelques gouttes (20 à 30) de Bisulfite de soude, j'étends d'eau distillée puis j'agite. Ceci fait j'ajoute à ce mélange 3 à 4 gouttes d'acide Sulfurique, puis en dernier lieu du Permanganate de potasse.

C'est là la partie la plus délicate de l'opération et d'où dépend la régularité des calculs. Il faut saisir le moment où le Permanganate devient en excès. Voilà comment j'opère :

D'abord le Permanganate se décolore complètement puis passe rapidement au marron et tombe au fond du vase ; j'ajoute alors goutte à goutte du Permanganate jusqu'à ce qu'une teinte rose persiste pendant un certain temps (2 à 3 minutes).

Mais pendant cette opération, surtout quand on a un précipité abondant de Tétrabromophénol, il faut veiller à l'odeur qui doit être celle de l'acide Sulfureux, si on pense que cette odeur passe à celle du Brome remettre du Bisulfite de potassium jusqu'à décoloration du Permanganate, puis rajouter du Permanganate comme précédemment et avec le même soin.

Cette addition de Bisulfite a pour but de faire passer le Brome libre à l'état de Bromure et d'éviter ainsi les pertes de Brome.

J'ai donc en fin de compte une liqueur contenant

les débris de mon filtre, de l'oxyde de manganèse et du Bromure de potassium en dissolution.

Je filtre ce mélange et après lavage du filtre, le filtrat contient la totalité du Brome de mon Tétrabromophénol à l'état de Bromure.

III. — *Dosage du Bromure.*

J'ai pris pour doser le Bromure ainsi formé la méthode de CHARPENTIER VEULARD, ou méthode indirecte par la liqueur titrée d'Azotate d'argent et liqueur de Sulfocyanate de potassium correspondante. Voilà comment je m'en sers :

Après avoir versé la solution bromurée dans une fiole de *Erlenmeyer* je l'acidifie fortement par quelques gouttes d'acide Nitrique, puis j'y ajoute 1 centimètre cube, à peu près, d'une liqueur à 10/100 d'alun de fer ammoniacal (ce sel violet donnera une liqueur brun rougeâtre). — C'est alors que commence le véritable dosage.

J'ajoute au mélange précédent 10 centimètres cubes exactement d'une solution d'Azotate d'argent décimor-male (10,8 Ag. pour 1000) ; à ce moment se produit un trouble ou un précipité plus ou moins abondant. Je porte alors ma fiole de *Erlenmeyer* sous une pipette de MOHR contenant une solution de Sulfocyanate de potassium, correspondant exactement à ma solution d'Argent cent cubes à cent cubes (9 gr. 70 par litre). S'il n'y avait pas de Brome, je trouverais 10 cen-

timètres cubes de ma solution de Sulfocyanate pour précipiter l'Argent et à ce moment ma liqueur vire-rait au rouge. Mais comme une partie de l'Argent a été précipité à l'état de Bromure dans la liqueur, je trouverai une quantité inférieure à 10 centimètres cubes pour saturer ma solution argentique.

C'est la différence entre ces deux chiffres qui me donnera la quantité d'Argent employé par le Bromure et partant la quantité de Brome contenu dans ma liqueur.

Le moment où tout l'Argent est précipité d'une part à l'état de Bromure, d'autre part à l'état de Sulfocyanate, est indiqué par la teinte rose que prend la liqueur incolore quand le Sulfocyanate en excès vient réagir sur l'Alun de fer et donner du Sulfocyanate de fer rouge sang, indicateur que l'on connaît déjà pour sa très grande sensibilité.

En résumé nous avons, dans notre procédé, exécutés trois opérations successives :

1° Formation du Tétrabromophénol et lavage de ce produit ;

2° Destruction de ce précipité ;

3° Dosage du Brome dans la liqueur ainsi produite.

C'est donc par un dosage de Brome et par les calculs de ce Brome que je suis arrivé à trouver à quelle quantité d'acide Salicylique correspondait une quantité de Brome, ou plutôt d'Argent connue ; puis partant de là, j'ai pu appliquer cette méthode à la recherche de l'acide Salicylique dans les urines avec ou sans passage dans l'organisme.

A ce sujet je redonnerai les calculs que j'ai faits pour trouver la formule dont je devais me servir et le coefficient que j'obtenais ainsi.

Pour plus de clarté je reviendrai ici en détail sur les calculs par lesquels j'ai basé mon dosage.

La formule du Tétrabromophénol étant :



pèse par conséquent en molécules-grammes 410 grammes ; de même la formule de l'acide Salicylique étant :



Il pèse en molécules-grammes 138.

Donc 138 grammes d'acide Salicylique donnent 410 grammes de Tétrabromophénol, ou en faisant les calculs 1 gramme d'acide Salicylique équivaut à 2 gr. 9710 de Tétrabromophénol. Si nous poussons plus loin les calculs, nous nous rendrons facilement compte que 410 grammes de Tétrabromophénol contiennent 320 grammes de Brome et que par conséquent 2,9710 de ce produit correspondront à 2 gr. 3188 de Brome, ou pour mieux dire à 1 gramme d'acide Salicylique. Il ne nous reste plus maintenant qu'à calculer la quantité d'Argent retenu par ces 2,3188 de Brome. Nous voyons rapidement que l'Argent utilisé est de 3 gr. 1304. Par conséquent 1 gramme d'acide Salicylique correspond donc à 3 gr. 1304 d'Argent.

Mais pour utiliser ces chiffres, il faut au contraire savoir à combien d'acide Salicylique équivaut 1 gramme d'Argent c'est ce que nous allons faire et nous trouverons que 1 gramme d'Argent vaut : 0,3194 d'acide Salicylique.

Maintenant il ne nous restera plus, quand nous connaîtrons la quantité d'Argent employé dans notre dosage, qu'à la multiplier par ce chiffre de 0,3194 pour avoir la teneur de la liqueur en acide Salicylique.

Tous ces chiffres étant donnés, nous passerons en revue les divers paragraphes dont nous avons parlé au début de ce chapitre.

1^o Essai de dosage dans une solution aqueuse de teneur connue.

Pour ces essais je me suis servi de deux solutions de titre très différent ; la première dont nous parlerons contenait 1 gr. 25 de Salicylate de soude par litre.

Je donnerai successivement les différentes expériences que j'ai réalisées accompagnées immédiatement de leurs calculs.

1^{re} Expérience. — J'ai pris 1 centimètre cube de la solution à 1,25 pour 1000, puis je l'ai étendue d'un volume d'eau quelconque. J'ai fait les différentes opérations que j'ai décrites précédemment : Addition de Brome, filtration, destruction du produit bromé et nouvelle filtration.

J'ai alors ajouté à la liqueur incolore que j'ai ainsi obtenue et après l'avoir acidifiée ; d'abord mon indicateur ferrique, puis 10 centimètres cubes de la liqueur argentique décinormale. J'ai alors placé sous la pipette de MOHR et j'ai ajouté du Sulfocyanate de potassium jusqu'à coloration nettement rosée. J'ai ainsi obtenu le chiffre de 9,6.

Si alors je retranche cette valeur de 10 centimètres cubes que j'ai ajoutée je vois que 0,4 centimètres cubes de ma solution argentique ont été nécessaires pour précipiter la totalité de mon Brome.

Sachant la quantité d'argent contenu dans ces 0, cc. 4, il me sera facile par mon coefficient de calculer la quantité d'acide salicylique qui y correspond, soit : 0 cc. 4 que je multiplierai par le coefficient 0,3194, ce qui me donne le chiffre de 0,00127 par centimètre cube qui donne par conséquent par litre la quantité de 1 gr. 27, chiffre évidemment approché et dont la clinique pourra, je le crois, se suffire.

Si j'ai donné pour cette première expérience bien des détails, je pense qu'ils ne seront plus nécessaires pour les autres ; aussi est-ce plus succinctement que je vais transcrire les autres expériences d'essais que j'ai faites.

2^e Expérience. — J'ai pris alors 2 centimètres cubes de la même solution (1,25/1000) et j'ai opéré comme précédemment. Voici les résultats du dosage :

Dix centimètres cubes de solution argentique ont été ajoutés, j'ai obtenu 9 cc. 2 de Sulfocyanate employé, donc 0 cc. 8 de liqueur argentique employée,

par conséquent 0 cc. 8 multiplié par mon coefficient 0,3194 me donne en acide Salicylique 0,00255, ou par litre 1 gr. 275 d'acide salicylique.

3^e *Expérience.* — J'ai alors étendu la solution de façon à ramener le titre à 0,125 par litre ; j'ai pris 1 centimètre cube de cette solution que j'ai étendu d'un volume quelconque, puis les opérations faites j'ai dosé. Voici les résultats : Auparavant j'avais préparé avec ma solution décinormale, une solution centinormale d'Argent et une solution de Sulfocyanate exactement correspondante. Voici les chiffres :

1,0 de liqueur argentique ou 10 centimètres cubes de liqueur centinormale m'ont donné 0,96 de sulfocyanate ou 9,6 de liqueur normale donc pour la liqueur à 0,125 par litre nous trouvons un chiffre de 0,04 et en multipliant par 10 de 0,4 comme pour la liqueur non étendue. Cette expérience avait pour but de voir si le fait d'étendre les solutions employées modifiait les résultats obtenus. Mais comme j'avais modifié toutes mes liqueurs et que le procédé était long et fastidieux, j'ai essayé dans une expérience suivante à me servir de la solution de Salicylate étendue avec mes deux liqueurs argentique et sulfocyanée normales.

4^e *Expérience.* — J'ai pris 10 centimètres cubes de la solution étendue à 0 gr. 125 pour 1000, puis après les avoir traités comme précédemment j'ai dosé et obtenu :

Avec 10 centimètres cubes de ma liqueur argentique décinormale 9 cc. 6 de ma liqueur au Sulfocya-

niat. 0,4 d'argentique avaient encore été employés, mais comme il s'agissait ici de 10 centimètres cubes et non de 1 centimètre cube, il en résultait que nous retrouvions bien le chiffre de 0 gr. 127 par litre.

Dans cette première série d'expériences nous voyons que si le chiffre d'acide Salicylique est un peu trop élevé, il est assez satisfaisant pour servir à l'étude clinique de l'élimination du Salicylate.

Passons maintenant à la deuxième solution aqueuse qui contenait 4 gr. 891 de salicylate de soude amorphe et desséché. Les opérations étant toujours les mêmes, nous n'insisterons pas sur ces expériences et nous nous contenterons d'en donner les résultats.

5^e Expérience. — J'ai pris 20 centimètres cubes de la solution, après les différentes opérations j'ai dosé.

Dix centimètres cubes d'argent ajoutés, je n'en ai trouvé que 7 cc. 2. Donc j'avais employé 2 cc. 8 de la solution argentique, ce qui me donne par conséquent 2 cc. 8 multipliés par 0,3194 donne 0,0894 ou par litre 4 gr. 47 d'acide Salicylique.

6^e Expérience. — Je refis cette même expérience mais en prenant 10 centimètres cubes de la solution et j'obtins les chiffres suivants :

Pour 10 centimètres cubes de liqueur argentique je n'en retrouvais plus que 8 cc. 5 cc qui m'indiquait que 1 cc. 5 avait été employé par le Brome.

J'avais donc 1 cc. 5 multiplié par 0,3194 qui me

donnait donc un résultat de 0,0468 ou de 4 gr. 68 par litre.

7^e *Expérience.* — Opéré de même pour 10 centimètres cubes de la solution.

Pour 10 centimètres cubes de liqueur argentique je trouve 8 cc. 4 de sulfocyanate, donc 1 cc. 6 de solution argentique employé, par conséquent 1 cc. 6 multiplié par 0,3194 donne comme résultat 0,0511 et par litre 5 gr. 11 ; dans ces deux expériences, dans l'une le chiffre est un peu trop fort, dans l'autre un peu faible.

Mais si nous faisons la moyenne de ces deux chiffres et *c'est le procédé qui paraît réunir le plus de sûreté pour les calculs*, nous trouverions comme moyenne de ces deux chiffres 4 gr. 89 par litre. Par hasard, ici il correspond à celui que nous cherchons, mais, grâce à la méthode des moyennes il sera toujours rapproché de la vérité. Dans ces diverses expériences qui ont été pour moi des expériences préliminaires je me suis ainsi rendu compte de la valeur approximative de la méthode que je proposais puisqu'aucune cause d'erreur ne venait entraver aucune de mes précipitations et que, par conséquent, j'étais sûr de la pureté du Tétrabromophénol formé.

2^o Dosage dans une urine où l'on a ajouté une quantité connue de Salicylate de soude.

Nous allons maintenant passer au dosage du Salicylate dans une urine normale dans laquelle j'en ai ajouté une quantité connue.

Avant de me livrer aux diverses expériences qui vont suivre, je me suis assuré un certain nombre de fois que l'urine normale ne donnait *aucun précipité avec le Brome*, quelle que fût la quantité qu'on en ajoutait.

Je n'ai fait cette expérience que sur une seule urine contenant par addition 0,125 de Salicylate de soude par litre : je l'avais obtenue en ajoutant à 90 centimètres cubes d'urine 10 centimètres cubes de la solution à 1,25 pour 1000.

Les opérations ont été les mêmes. En voici les résultats :

1^{re} Expérience. — J'ajoute à la liqueur bromurée finale 10 centimètres cubes de liqueur argentique, je n'en retrouve au dosage que 9 cc. 6, c'est donc 0 cc. 4 de solution argentique que j'ai employés donc $0\text{ cc. }4 \times 0,3194$ me donneront le chiffre de 0,00127 ou de 0 gr. 127 par litre, chiffre encore très approché de la réalité.

2^e Expérience. — Je fis une seconde expérience qui me donna les mêmes chiffres et partant le même résultat.

J'essayai alors de voir la différence de chiffre que j'obtiendrais en extrayant à l'éther le salicylate contenu dans mon urine, je ne pensais pas alors à faire servir ce procédé d'extraction à l'éther pour l'urine normale, mais pour des urines dans lesquelles le Brome pourrait précipiter en trop grande quantité des albumines ou dans un liquide nettement albumineux ; liquide pleural au sérum sanguin par exemple.

Quoi qu'il en soit j'ai traité 10 centimètres cubes de mon urine acidifiée légèrement, contenant 0, gr. 125 de Salicylate de soude pour 1000 par 10 centimètres cubes d'éther, puis par 10 autres centimètres cubes et enfin pour balayer j'agitai une dernière fois avec 20 centimètres cubes du même réactif. Inutile de dire les opérations utiles à cette expérience ; elles sont connues et faciles à reproduire. J'avais donc 40 centimètres cubes d'éther contenant la totalité de l'acide Salicylique à doser. Je l'évaporai au bain-marie avec précaution (pour plus d'exactitude je l'évaporai sur les tuyaux du calorifère à vapeur pour éviter les dangers d'inflammation). Une fois le résidu sec je le repris par l'eau distillée et c'est sur cette eau contenant en dissolution mon extrait éthéré que je fis les différentes opérations : Brome, destruction du Tétrabromophénol, etc. Ceci fait, je dosai comme précédemment, et voici les résultats de ce dosage :

Dix centimètres cubes de l'urine furent employés.

J'ajoutai 10 centimètres cubes de liqueur argentique, et par le dosage je n'en retrouvai plus que 9 cmc. 6 ; j'avais donc employé 0 cmc. 4 de la solution argentique, et, en nous reportant aux calculs de l'expérience précédente, nous voyons que la quantité trouvée est de 0 gr. 127 d'acide Salicylique par litre.

Par cette expérience nous voyons que l'extraction à l'éther donne les mêmes chiffres que les opérations

sur l'urine elle-même, mais nous fait entrevoir la possibilité de cette extraction dans le cas de liquide albumineux ou difficile à filtrer après l'addition de Brome.

3^e Dosage dans l'urine après passage du Salicylate de soude dans l'organisme.

Ce troisième paragraphe va traiter maintenant du Salicylate de soude ingéré en quantité connue et dosé dans l'urine après son passage dans l'organisme. Là nous savons, d'après tous nos auteurs, que l'acide salicylique passe en grande partie non attaqué par les réactions internes et qu'une autre partie se réunissant au glycocolle est éliminée sous forme d'acide Salicylurique. Mais après un certain nombre d'expériences, j'ai cru m'apercevoir : ou que l'acide Salicylurique était lui-même attaqué par le Brome et donnait le même produit que l'acide Salicylique, ou que la quantité produite était trop faible pour fixer notre attention.

Je passerai donc sous silence l'acide Salicylurique puisqu'il ne nous sera d'aucune gêne dans nos calculs.

1^{re} Expérience. — J'ai pris 3 gr. 837 de Salicylate de soude en lamelles, puis j'ai recueilli les urines des vingt-quatre premières heures ; c'est à cette quantité que je rapporterai tous mes calculs : 1 l. 600 en vingt-quatre heures. J'ai alors fait deux séries

d'opérations qui m'ont conduit à deux dosages ; voici les chiffres obtenus :

1^{er} Dosage. — J'ai pris 20 centimètres cubes d'urine et fait les opérations ordinaires. Avec 10 centimètres cubes de liqueur argentique : après dosage 8,3 nous avons donc 1 cc. 7 de liqueur argentique employé et après les calculs $1,7 \times 0,3194$ nous donnent un résultat de 0,0542 ou par litre 2,71 ; et, comme nous avons 1 l. 600 en faisant le calcul de la quantité, nous avons 4 gr. 3433 pour nos vingt-quatre heures.

Cette quantité est trop grande évidemment.

Mais dans le second dosage nous avons pour 10 centimètres cubes de liqueur argentique que nous avons ajoutés 8 cc. 8 de reste, c'est-à-dire 1 cc. 2 de liqueur argentique employée. Et en faisant les calculs nous avons un total de 3 gr. 2577 de Salicylate de soude par 24 heures. Dans ce second dosage nous avons au contraire un résultat un peu faible. Mais si maintenant nous faisons la moyenne de ces deux chiffres, nous nous apercevons que cette moyenne se rapprochera sensiblement de la réalité : elle est de 3,8005 alors que le chiffre à trouver est de 3 gr. 837.

J'ai voulu voir ensuite ce que l'ébullition faisait sur l'urine contenant cet acide Salicylique, et un peu de Soude après son passage dans l'organisme. Les chiffres que j'ai obtenus sont à peu près semblables à ceux que j'ai obtenus sans ébullition.

Après avoir fait deux séries de dosage, j'ai obtenu

d'une part 1 cc. 7 de liqueur argentique employée puis dans une deuxième opération 1 cc. 3 de la même liqueur argentique. Les deux chiffres obtenus par litre étaient donc respectivement de 6 gr. 3633 et 3 gr. 5291 par litre. Or, si nous refaisons aussi la moyenne de ces deux chiffres, nous obtenons 3 gr. 9362, chiffre qui quoique un peu plus fort se rapproche évidemment du chiffre cherché 3 gr. 837 et du premier chiffre trouvé 3 gr. 8005. Mais nous voyons qu'il est préférable de se passer de l'ébullition et d'opérer directement sur l'urine telle quelle.

2^e *Expérience.* — J'ai pris pour cette deuxième expérience 3 gr. 3162 de Salicylate de soude amorphe et desséché. Après avoir recueilli les urines des vingt-quatre heures je les ai mesurées: j'avais 2 litres en vingt-quatre heures.

J'ai alors fait comme précédemment deux dosages successifs de façon à obtenir un chiffre moyen.

La première fois j'ai obtenu 1 gr. 1 de liqueur argentique employé, d'où 3 gr. 5134 pour les deux litres que nous avons mesurés; ce chiffre est évidemment et comme précédemment trop élevé; dans mon second dosage j'ai trouvé 1 centimètre cube de liqueur argentique employé et partant 3 gr. 1940 de Salicylate de soude pour mes deux litres, chiffre trop faible. Si maintenant et ainsi que j'en ai pris l'habitude, je fais la moyenne de mes deux chiffres, j'obtiens 3 gr. 3537 de Salicylate de soude, chiffre évi-

demment rapproché de 3 gr. 3162 que nous devions retrouver.

Par ces diverses expériences, nous voyons dont qu'il sera facile de doser d'assez près le Salicylate de soude absorbé par l'organisme, et cela pourra avoir un intérêt quand on voudra étendre cette méthode à la recherche de l'acide Salicylique dans divers liquides de l'organisme et on pourra juger par ces chiffres suffisamment rapprochés du rapport qui existe entre le chiffre d'élimination urinaire et de l'élimination d'autres organes.

CHAPITRE VI

Essai de Dosage du Salol et du Bétol.

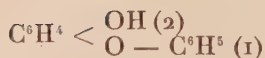
Après avoir établi ces calculs et cette méthode pour l'application à l'acide Salicylique et au Salicylite de soude je me suis demandé s'il me serait possible d'adapter cette méthode au calcul d'analyse de certains produits salicylés. Nous avons pris comme exemple : 1° LE SALOL ; 2° LE BÉTOL. D'abord nous allons dire en quelques mots ce que ce sont que ces deux sels et quelle conduite nous pourrions tenir pour leur dosage.

Malgré l'apparence de régularité des décompositions organiques, il nous sera impossible de tabler par des calculs la quantité de Brome nécessaire, et c'est à un coefficient calculé sur un certain nombre de dosages que nous nous sommes arrêté pour calculer les chiffres correspondant à ces deux composés salicylés.

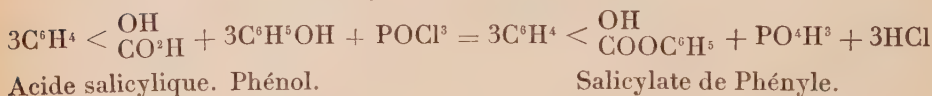
1° Essai de dosage du Salol.

Voici d'abord à titre de renseignements ce que Béhal nous dit de ce corps :

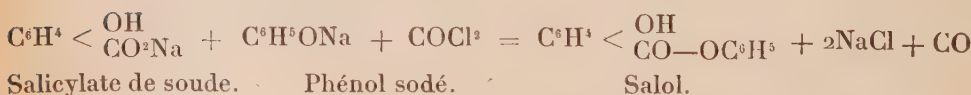
Le Salol est du Salicylate de phényle.



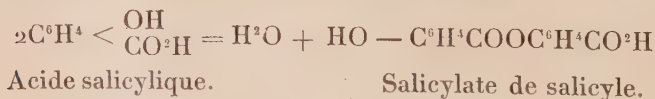
Ce corps a été préparé par **Nencki** en chauffant avec de l'Oxychlorure de phosphore un mélange de Phénol et d'acide Salicylique.



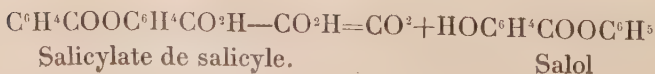
Il se forme probablement d'abord du Chlorure de salicyle qui réagit ultérieurement sur le Phénol. La fonction phénolique ne réagit pas avec facilité sur l'Oxychlorure de phosphore. Dans l'industrie on prépare le Salol en faisant passer de l'Oxychlorure de carbone CO Cl^2 dans un mélange de Phénate et de Salicylate de soude.



On peut également le préparer en chauffant simplement l'acide Salicylique entre 160 degrés et 240 degrés et en éliminant l'eau qui se forme par un courant d'acide Carbonique ; il se fait d'abord de l'acide Salicylsalicylique (disalicylique).



qui prend CO^2 et donne le Salol.



Le Salol est un corps cristallisé en lamelles losangiques incolores, fondant à 41 degrés. Il est insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, l'éther, la benzine et la vaseline liquide. Son odeur rappelle celle de l'essence de Wintergreen (1).

Maintenant que nous connaissons la formule du Salol, on pourrait à la rigueur essayer de calculer la quantité de Brome nécessaire à saturer 2 molécules de Phénol qui entrent dans la composition du Salol ; mais je me suis aperçu que cela n'était pas possible. J'ai donc calculé le coefficient par lequel on pouvait arriver à retrouver le chiffre du Salol pris par ingestion buccale. Mais comme je l'ai déjà fait précédemment il sera là aussi préférable d'opérer par *moyenne*, et le chiffre ainsi trouvé se rapprochera beaucoup plus du chiffre à trouver.

Le coefficient est 0,1068. Je vais expliquer de quelle manière je l'ai obtenu, et les calculs que j'ai faits pour arriver à un résultat dont on puisse se servir.

Après avoir fait trois séries d'expériences j'ai pris, comme je l'ai déjà indiqué, la moyenne du chiffre trouvé.

Puis j'ai calculé, étant donné le nombre de centimètres cubes d'urines éliminées dans les vingt-quatre heures, la quantité de Salol que contenait ce litre. Voici pour les trois séries d'expériences les chiffres que j'ai trouvés. J'étais parti les trois fois de 3 grammes de Salol :

1. Behal. *Chimie organique*, 1897, t. II, p. 214.

1^{re} expérience, 3 gr., pour 1525 c. cubes = 1 gr. 9672 p. litre.

2^e expérience, 3 gr., pour 1650 c. cubes = 1 gr. 8181 p. litre.

3^e expérience, 3 gr., pour 2275 c. cubes = 1 gr. 3186 p. litre.

Possédant ces trois chiffres, il me fallait trouver un chiffre tel qu'en le multipliant par le nombre de centimètres cubes trouvés j'obtins la quantité par litre que j'avais calculée. Après quelques tâtonnements j'arrivai au chiffre de 0,1068 dont je me suis servi.

Nous verrons en effet par le calcul de ces différentes expériences que ce chiffre donne le plus rapproché et suffisamment utile pour la clinique.

1^{re} *Expérience*. — J'ai pris 3 grammes de Salol et recueilli les urines pendant vingt-quatre heures, j'ai obtenu 1525 centimètres cubes d'urine. Après avoir fait comme pour l'acide Salicylique et les mêmes opérations, j'ai obtenu au dosage de ma solution bromurée les trois chiffres suivants : 1,0 — 2,0 — 2,5, ces chiffres paraissent et sont en effet assez discordants ; mais si on fait la moyenne on se rendra compte qu'elle suffit pour établir des chiffres suffisamment exacts dans tous les cas. Cette moyenne est ici de 1,8.

Or ce chiffre s'applique à une quantité de 100 centimètres cubes d'urine et nous aurons par conséquent à multiplier par 10 pour obtenir la quantité totale par litre. En effet $1,8 \times 0,1068$ me donna par litre le chiffre de 1,9224 au lieu de 1,9672 que nous aurions dû trouver.

2^e *Expérience*. — Après avoir pris comme précé-

demment 3 grammes de Salol et recueilli les urines des vingt-quatre heures (1.650 centimètres cubes), puis avoir fait toutes les différentes opérations j'ai obtenu comme chiffres 1,6 — 1,8 — 1,6. Ces différents chiffres donnent en moyenne 1,7 rapporté à 100 centimètres cubes d'urine. En calculant par litre nous obtenons le chiffre de 1,7 multiplié par 0,1068, qui donne 0,18156 ou par litre 1 gr. 8156 au lieu de 1 gr. 8181 que nous avions à trouver, là les chiffres se rapprochant sensiblement.

3^e *Expérience.* — Après avoir pris 3 grammes de Salol, j'ai fait les mêmes opérations que précédemment et recueilli 2.275 centimètres cubes d'urines. Les chiffres obtenus dans les dosages furent 1,0 — 1,2 — 1,6, qui donnent par leur moyenne 1,23. Par les calculs nous avons obtenu 1,23 qui multipliés par 0,1068 donne 0,13136 ou 1 gr. 3136 par litre. Le chiffre auquel nous devons arriver étant 1 gr. 3186.

Par ces expériences nous nous rendons compte que les chiffres obtenus par ce coefficient se rapprochent suffisamment du chiffre cherché pour pouvoir être utiles dans les recherches de la clinique.

Mais il est un point que je ferais pressentir sans m'y arrêter, par les calculs d'analyse. Après avoir fait bouillir l'urine j'ai remarqué que les chiffres que l'on obtenait après ce traitement étaient à peu près doubles des chiffres obtenus avec l'urine naturelle. Or si l'on considère que 1 molécule de Salol équivaut à 2 molécules de Phénol, on peut émettre une hypothèse qui serait peut-être réalisable mais

que je ne traiterai ici que comme simple aperçu à venir. C'est que chaque fois que l'urine a bouilli, les composés phénoliques sont mis en liberté et viennent s'ajouter au radical salicylé que l'on y découvre à l'état naturel. Donc, lorsqu'on prend du Salol par la voix buccale, il semblerait qu'il est bien décomposé en ses deux composants : acide Salicylique et Phénol, et que dans son passage dans les urines une partie est à l'état d'acide Salicylique libre ou combinée à des bases solubles, et que le Phénol, l'autre partie, est combinée à l'état de sulfoconjugués non décomposables par le Brome directement et décomposables soit par la Soude (?), soit par l'ébullition en présence de traces de Soude. Si la méthode peut s'appliquer à cette décomposition, il serait intéressant de voir les phases de cette opération chimique. Mais comme je l'ai dit plus haut, il sera loisible de continuer, par des dosages méthodiques, de se rendre compte de cette action décomposante de l'organisme.

Nous avons donc vu qu'il serait possible, avec notre procédé de dosage, de rechercher le Salol contenu dans les urines grâce à un coefficient toujours le même ; mais j'ai voulu voir ce qui se passerait pour un composé plus élevé en carbone non plus phénolique mais naphtolique et j'ai pensé à reprendre mes expériences avec le BÉTOL.

2° Essai de dosage du Bétol.

Nous dirons succinctement quelques mots de ce composé salicylé. Le Bétol, comme le Salol était un

salicylate de Phénol, est, comme le fait pressentir son nom, un Salicylate de Naphtol β . Pour ses propriétés et sa préparation voici ce que nous dit Behal (1):

Ce corps a pour formule :



Il se prépare comme le Salol, mais en ayant soin de remplacer le Phénol de la réaction précédente par du Naphtol β ; c'est un corps cristallisé, fondant à 95 degrés qui est à peu près insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool et soluble dans l'éther. Ce corps à son passage dans l'organisme, se dédouble en ses deux composants : acide Salicylique et Naphtol.

Je fis là encore trois séries d'expériences et, comme pour le Salol, je m'aperçus que seul un coefficient calculé d'après les dosages pouvait m'amener à retrouver dans les urines la quantité de Bétol ingéré par la voie stomacale.

J'ai calculé ce coefficient en rapportant au litre les quantités de Bétol que j'absorbais et comme je prenais 100 centimètres cubes de l'urine il ne me restait plus qu'à multiplier par 10 pour obtenir ma quantité de Bétol par litre d'urine.

Le coefficient trouvé fut 0,5272, nous allons l'appliquer à nos différentes expériences en prenant toujours comme multiplicateur la moyenne des chif-

1. Behal. *Chim. Org.*, Paris, 1897. T. II, p. 215.

fres trouvée en centimètres cubes de la solution de Sulfocyanate.

1^{re} Expérience. — J'ai pris 1 gramme de Bétol par la voie buccale et j'ai recueilli les urines des vingt-quatre heures. J'ai dosé le salicylate qu'elle devait contenir par notre méthode et après les diverses opérations préliminaires j'obtenais les chiffres suivants : 1, 1 — 1, 3 — 1, 3 dont la moyenne était de 1, 2. J'avais préalablement calculé la teneur du litre, car pour 1 gramme de Bétol, j'avais recueilli 1575 centimètres cubes d'urines, cette quantité était de 0 gr. 6349. Or, en multipliant le coefficient 0,5272 par la moyenne 1,2, j'obtenais comme quantité de bétol 0 gr. 6326, chiffre rapproché des précédents.

2^e Expérience. — Je repris encore 1 gramme de Bétol et en recueillant les urines des vingt-quatre heures j'obtins 1700 centimètres cubes. La quantité de Bétol était cette fois-ci un peu moindre par litre et était de 0 gr. 5882.

Les chiffres obtenus par les dosages furent de 1,0 — 1,2 — 1,1. Ce qui me donna une moyenne de 1,1, ce dernier chiffre multiplié par notre coefficient 0,5272 nous permit de trouver par litre 0 gr. 5799, chiffre un peu faible, mais encore assez rapproché du précédent 0 gr. 5882.

3^e Expérience. — Je repris encore 1 gramme de Bétol puis recueillis les urines des vingt-quatre heures (1480 centimètres cubes), ce qui me donna une quantité de 0,6756 par litre d'urine. J'ai dosé sur 100 centi-

mètres cubes comme précédemment et obtenu les trois chiffres suivants : 1,3 — 1,0 — 1,55 qui, comme moyenne, me donnèrent 1,28 ; c'est ce dernier chiffre qui multiplié par 0 gr. 5272, notre coefficient, nous donna 0 gr. 6748 par litre, chiffre rapproché de 0 gr 6756 que nous avons par le calcul.

Nous voyons que par ce calcul et grâce au coefficient cherché il sera facile de retrouver une quantité de Bétol passée dans les urines et de même que pour le Salol on pourra se rendre compte de son élimination plus ou moins rapide par des dosages successifs à des heures déterminées. J'ai essayé alors sur ces mêmes urines à redosér le produit bromé après ébullition avec une trace de Soude ; mais les chiffres ont été alors tellement disparates qu'il m'a été impossible d'en tenir le moindre compte. La méthode que nous proposons pourrait donc être intéressante à pousser du côté du Salol au point de vue de sa décomposition mais ne paraît rien donner pour celle du Bétol.

CONCLUSIONS

Comme nous l'avons dit en commençant, nous avons dans ce travail voulu donner à la clinique une méthode simple et rapide de dosage de l'acide Salicylique.

Si nous l'intitulons *nouvelle*, c'est que nous ne croyons pas que les procédés mis en œuvre dans notre dosage aient été employés de la même façon.

Le premier est basé sur la précipitation de l'acide Salicylique sous forme de composé Tétrabromé, c'est surtout pour la recherche du Phénol qu'on appliquait cette réaction.

La seconde réaction, la destruction du Tétrabromophénol par le Permanganate et le Bisulfite en solution acidifiée par l'acide Sulfurique est un procédé général.

Enfin le dosage de **Charpentier Veulard** a été appliqué pour le dosage direct de l'Argent ou indirect des Chlorures.

Ces trois procédés que nous avons réunis pour en former *un tout*, et pour l'appliquer à l'acide Salicylique, est la partie *nouvelle* de notre méthode et dont nous nous sommes autorisé pour le titre de notre travail.

Quant à son application nous nous sommes efforcé de garder toujours la plus grande simplicité, pour qu'une main peu expérimentée puisse s'en servir facilement.

Enfin les chiffres que nous avons trouvés au cours de ce travail font voir la valeur relative de ce procédé et la possibilité de son application à la clinique.

Voici, en tableau, le résumé de tous ces chiffres. Nous le diviserons de la même manière que les différents chapitres auxquels ils se rapportent.

**Tableau des dosages donnant les chiffres trouvés
et les chiffres calculés ou connus.**

1^{re} Dans une solution aqueuse de titre connu.

Par litre	1 gr. 27	au lieu de	1 gr. 25
»	1 gr. 27	»	1 gr. 25
»	0 gr. 127	»	0 gr. 125
»	0 gr. 127	»	0 gr. 125
»	4 gr. 47	»	4 gr. 891
»	4 gr. 68	»	4 gr. 891
»	5 gr. 11	»	4 gr. 891

2^o Dans une urine. Addition directe.

Par litre	0 gr. 127	au lieu de	0 gr. 125
»	0 gr. 127	»	0 gr. 125
Par litre (Extraction à l'éther)			
»	0 gr. 127	»	0 gr. 125

3° *Dans une urine après passage dans l'organisme.*

Par 24 heures	3 gr. 8005	au lieu de	3 gr. 837
»	3 gr. 9362	»	3 gr. 837
»	3 gr. 3537	»	3 gr. 3162

4° *Dosage du **Salol** après passage dans l'organisme.*

Par litre	1 gr. 9224	au lieu de	1 gr. 9672
»	1 gr. 8156	»	1 gr. 8181
»	1 gr. 3136	»	1 gr. 3186

5° *Dosage du **Bétol** après passage dans l'organisme.*

Par litre	0 gr. 6326	au lieu de	0 gr. 6349
»	0 gr. 5799	»	0 gr. 5882
»	0 gr. 6748	»	0 gr. 6756

Par l'examen de ces tableaux, il ressort que nous n'avons pas obtenu des chiffres *chimiquement* approchés ; mais nous tenons encore une fois à bien spécifier que ce travail ayant été fait au point de vue *clinique* et les chiffres obtenus devant servir, non par eux-mêmes, mais par leur rapport entre eux, nous croyons pouvoir espérer qu'ils sont suffisamment exacts et qu'il pourront être de quelque utilité dans la pratique.

Vu : Le Président de la thèse,
GAUTIER

Vu : le Doyen,
DEBOVE

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris
LIARD

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1856. — BERTAGNINI. — Sur l'acide salicylurique. Il nuovo cimento, t. I, p. 363 et Annales de chimie et de physique, 3^e série, t. XLVII, p. 178.
1877. — ROBINET (ED.). — Comptes rendus, t. LXXXIV, p. 1321.
1884. — SCHMIDT (R.). — Berichte, t. XVIII. Ref. 439.
1885. — WURTZ (AD.). — Chimie biologiq. Paris, p. 763.
1885. — WERNER (M.-E.). — Substitution bromée de l'hydrogène phénolique-tribromophénol bromé. Comptes rendus, 1885.
1889. — ELION. — Recherche et dosage de l'ac. salicyl. dans les bières. Dingler's polytechnische's Journal, t. CCLXX, p. 431. Recueil des Trav. chim. des Pays-Bas. T. VII, p. 211.
1892. — RICHTER (VON). — Traduction E. F. Smith. Chimie organique. Philadelphie, 1892, t. II, p. 267.
1893. — LINDEMANN et MATTEN. — Sur une nouvelle méthode de recherche des alcaloïd. et de l'ac. saccharin. et de l'ac. salicyl. dans les bières. Société chim., t. IX, p. 446.
1896. — FREYER (F.). — Le dosage de l'ac. salicyl. Chimiq. Zeit., t. XX, p. 820-821.
1896. — POUCHET (G.). — Eclairciss. sur le rôle de l'ac.

salicyl. et des salicylates en physiol. et en thérap.
Les nouv. remèd., 1890, t. XII, p. 29.

1897. — BONDZYNSKY (H.). — Sur la présence de quelques éthers salicylés dans l'organisme. *Gazet. Lekarska*, t. XIV, p. 367. *Jarhesb Thierch*, t. XXVI, p. 100 et *Arch. für exper. Pathol., und. Pharmak.*, t. XXVIII, p. 88 à 98.

1867. — MARCUSE (WILH.). — Sur un nouveau principe de réaction avec application de la recherche au chlorure de fer dans la pratique. *Deutch. medic. Wochenschrift. Verensbelage*, t. X, p. 67 à 68.

1897. — GAUTIER (A.). — *Chim. org. Paris* ; *Chim. Biolog. Paris* 1897, t. II, p. 654.

1897. — BEHAL. — *Chim. org. Paris*, t. II, p. 362 et suiv.

1897. — CHEVALIER et BOUDRIMONT. — *Dictionnaire des altérations et falsifications des produits alimentaires* (7^e édit., Paris, p. 253).

1898. — SPICA. — Rech. de l'ac. salicyl. dans les vins. *Gazet. chim. ital.*, t. XXV, p. 207.

1898. — CURCI (A.). — Sur une réact. caractér. de l'ac. salicyl. *Arch. ital. de Biolog.*, t. XXIX, p. 239.

1899. — BREUNSTEDT. — Rech. de l'ac. salicyl. et benzoïq. dans le lait. *Arch. de pharm.*, t. CCXXXVII, p. 170-4-5.

1900. — FERREIRA DE SILVA. — Sur une cause d'erreur dans la rech. de l'ac. salicyl. dans les vins portug. *Arch. chim. analyt.*, t. VI, page 11.

1900. — PELLET (H.). — *Analys. quant. de l'ac. salicyl. dans les vins. Arch. de chim. analyt.*, t. VI, p. 327-328.

1901. — PERREIRA. — Sur la rech. de l'ac. salicyl. dans le vin et la bière. Soc. chim., t. XXV, p. 475.
1901. — FERREIRA DE SILVA. — Sur la sensib. de la méth. de rech. de l'ac. salicyl. dans les vins. Soc. chim., t. XXV, p. 726.
1901. — MESSINGER (J.). Rech. de l'acid. salicyl. par l'iode. Soc. chim., t. XXVI, p. 442.
1901. — A. BACHICCIO. — Giornale della. Ragale Soc. Ital. d'Igiene., t. XXIV, p. 291.
1902. — TAFPE. — Rech. de l'ac. salicyl. dans les aliments. Soc. chim., t. XXVII, p. 701.
1903. — ROBERTSON (W.). — Action de l'ac. nitrique sur les composés bromophénolés. Chemisch. society, t. LXXXI, p. 1475-1485 ; décembre 1902 et Soc. chim., t. XXX, p. 358.
- SCHULZ. — Archiv. de Phys., t. XV, p. 246 et Chemisch. centralblatt, 1878, p. 694.
- PAGLIANI. — Zeitsch. für analyt. chemie., t. XVIII, p. 475.
- FLEISCHER (B.). — Arch. für Klinich. med., t. XIX, p. 64 à 78.
- BORTREGER (A.). — Zeitch. für anal. chemie., t. XX, p. 87.
- CAZENEUVE. — Zeitch. für anal. ch., t. XIX, p. 254.
- PICCARD. — Berichte, t. VIII, p. 817 et Zeitch. für anal. chem., t. XV, p. 115.
- BENEDIKT. — Wiener, Akadem. Ber., t. LXXIX, p. 871.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVANT-PROPOS	8
INTRODUCTION	10
CHAPITRE I. — Quelques mots sur l'acide salicylique et son dérivé l'acide salicylurique	14
CHAPITRE II. — Réaction du brome sur la série phéno- lique et en particulier sur l'acide salicylique	23
CHAPITRE III. — Méthodes de recherches de l'acide salicylique	30
CHAPITRE IV. — Quelques méthodes de dosage de l'acide salicylique	43
CHAPITRE V. — Dosage par notre procédé	50
CHAPITRE VI. — Essai de dosage du SALOL et du BÉTOL	67
CONCLUSION	76
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	79